

**PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA
BORRELIA BURGDORFERI, BORRELIA PARKERI Y BORRELIA TURICATAE
EN POBLADOS DE LA PROVINCIA CORDILLERA, BOLIVIA**

L. CICERONI¹, A. BARTOLONI², P. GUGLIELMETTI³, F. PARADISI², H. GAMBOA BARAHONA⁴, M. ROSELLI², S. CIARROCCHI¹, B. CACCIAPUOTI¹

¹ Instituto Superior de Sanidad, Laboratorio de Bacteriología y Micología Médica, Roma, Italia

² Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Universidad de Florencia, Italia

³ Instituto de Enfermedades Infecciosas, Universidad de Siena, Italia

⁴ Distrito de Salud de Cordillera, Unidad Sanitaria, Santa Cruz, Bolivia

RESUMEN

Un estudio seroepidemiológico para determinar la prevalencia de borreliosis humana (enfermedad de Lyme) y de fiebre recurrente por garrapata, fue llevado a cabo en tres comunidades (Camiri, Boyuibe y Gutiérrez) de la provincia Cordillera, Dpto. de Santa Cruz, sudeste de Bolivia. Anticuerpos anti-*B. burgdorferi*, anti-*B. turicatae* y anti-*B. parkeri*, testados con la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA), fueron detectados en 10.8, 16.1 y 8.2% de las muestras de sueros examinadas y confirmadas por IFA-ABS en 1.3, 1.3 y 1.0% respectivamente. Este es el primer informe sobre la presencia de borreliosis de Lyme y de fiebre recurrente por garrapata en Bolivia. Para la borreliosis de Lyme estos hallazgos representan un dato adicional para confirmar su existencia en Sud América.

Palabras claves: borreliosis de Lyme, fiebre recurrente por garrapata.

INTRODUCCION

Guaraníes autóctonos y mestizos de la provincia Cordillera en el Depto. de Santa Cruz, sudeste de Bolivia, han sido previamente examinados para evaluar las tasas de infección por el virus de hepatitis A (HAV) (Bartoloni *et al.* 1989b), el virus de inmunodeficiencia humana (HIV) (Bartoloni *et al.* 1989b), el citomegalovirus (CMV) (Bartoloni *et al.* 1989b), *Toxoplasma gondii* (Paradisi *et al.* 1989), y protozoos intestinales y nematodos (Cancrini *et al.* 1989).

Para definir mejor el espectro de microbios patógenos que circulan en la provincia Cordillera, muestras de la población guaraní y mestizos fueron estudiadas por la presencia de infecciones de borrelia. Las borrelias son espiroquetas transmitidas por artrópodos capaces de causar diferentes enfermedades en personas y animales. Las fiebres recurrentes son enfermedades humanas agudas causadas por espiroquetas de la sangre del género *Borrelia*. Están distribuidas en todo el mundo y ocurren en muchos continentes del mundo, incluyendo América, Europa, África y Asia (Butler 1991). La borreliosis de Lyme es una zoonosis transmitida por garrapata recientemente reconocida, causada por *Borrelia burgdorferi* (Burgdorfer *et al.* 1982). Las infecciones humanas han sido reportadas en diferentes países de Norte América, Europa, Australia, Asia y África, con la mayoría de los casos provenientes de Estados Unidos y Europa (Paleólogo 1991). La borreliosis de Lyme no ha sido reportada en Sud América. Evidencia serológica de anticuerpos contra *B. burgdorferi*, la cual sugiere la presencia de borreliosis de Lyme, fue recientemente reportada en el Perú (Need & Escamilla 1991), pero la posibilidad de reacción cruzada a otras especies de *Borrelia* no puede ser excluida.

Según nuestro conocimiento, no han sido publicados estudios serológicos sobre la infección de borrelia en Bolivia. El presente estudio fue emprendido para determinar la seroprevalencia en el hombre de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*, el agente de la borreliosis de Lyme y *Borrelia turicatae* y *Borrelia parkeri*, agentes de la fiebre recurrente por garrapata. La técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA) fue utilizada para detectar anticuerpos anti-*Borrelia* en las muestras del suero. Las muestras de suero positivas fueron además testadas para anticuerpos contra borrelia después de la absorción con un extracto de *Treponema phagedenis*.

MATERIALES Y METODOS

Area de estudio

El estudio fue llevado a cabo en Camiri, Boyuibe y Gutiérrez, tres localidades de la provincia Cordillera, Dpto. de Santa Cruz, sudeste de Bolivia. La población de la provincia consiste principalmente de mestizos y algunos guaraníes, con actividades de subsistencia en la agricultura y crianza de animales. Camiri es una ciudad de 25,000 habitantes y es la "capital petrolera" de Bolivia, donde viven algunos trabajadores de la empresa petrolera (YPFB). Está situada en las últimas estribaciones de los Andes, a una altitud de 800 m. Boyuibe tiene 2,500 habitantes, a una altitud de 900 m., y está situada aproximadamente a 60 km. al sur de Camiri. Gutiérrez es un poblado con 850 residentes, situado a 60 km.

al norte de Camiri. Boyuibe y Gutiérrez son dos comunidades pobres, sin infraestructura, sin agua potable ni alcantarillado. En el área de estudio la temperatura varía de 17° a 26°C y el clima está definido como sub-húmedo-seco (Sanabria 1977).

Muestra de la población

Un total de 305 personas, 189 mujeres y 116 hombres, fueron examinadas por edad para evaluar la prevalencia de anticuerpos contra *B. burgdorferi*, *B. turicatae* y *B. parkeri* spp. El test Chi-cuadrado fue utilizado para evaluar la significancia de la prevalencia de sueros reactivos en la población. El estudio de la población incluyó selectivamente a guaraníes autóctonos y mestizos, que también pueden ser considerados parecidos a los autóctonos por su bajo estándar de vida. El estudio de la población incluyó a 132 personas de Camiri, 111 de Boyuibe y 62 de Gutiérrez. El tamaño de la muestra que necesitaba examinar para obtener resultados significativos fue establecido de acuerdo a los métodos de muestreo indicados por la OMS (1966) para los estudios de morbilidad. El tamaño de la muestra fue calculado para dar resultados significativos con un límite de confianza de 95%, para una prevalencia de anticuerpos contra *Borrelia* en la población no menor del 3% (OMS 1973).

Estudio Serológico

Una muestra de 10 ml de sangre venosa fue obtenida de cada persona. El suero fue almacenado a -20°C, transportado a Italia en hielo seco, y luego testado por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA) para los anticuerpos anti-*Borrelia*. Las cepas B31 de *B. burgdorferi*, *B. turicatae* y *B. parkeri* (proporcionadas por R. C. Jhonson, Universidad de Minnesota, Minneapolis) fueron usadas como antígenos diagnósticos. Todos los sueros fueron testados por IFA a una dilución de 1:32. Series de diluciones dobles, empezando de 1:64, fueron usadas para titular anticuerpos en los sueros positivos. Fue utilizado FITC marcado contra Ig humanas totales, directo a ambos anticuerpos IgG e IgM (Wellcome Diagnostics, England). Las muestras de suero reactivas al test IFA fueron absorbidas con extracto de *Treponema phagedenis* (Bio-Merieux, France) y nuevamente testadas para anticuerpos anti-*Borrelia* (IFA-ABS).

RESULTADOS

Anticuerpos contra *B. burgdorferi* fueron detectados en 33 (10.8%) de 305 muestras examinadas (cuadro 1). Las prevalencias en Camiri, Boyuibe y Gutiérrez fueron respectivamente de 8.3, 14.4 y 9.7%. Las diferencias entre las prevalencias observadas en cada localidad no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.1$). Los hombres no tuvieron una prevalencia de anticuerpos (13.8%) significativamente más alta que la de las mujeres (9.0%) ($p > 0.25$). La prevalencia específica por edad indicó una respuesta precoz de anticuerpos en niños de 1-5 años de edad (12.1%) con disminución de las frecuencias en grupos de edades mayores, pero con un pico (15.3%) en adultos de 21 a 40 años de edad.

Cuadro 1. Prevalencia de anticuerpos anti-*Borrelia* en sueros humanos de la Provincia Cordillera, testados por IFA.

| Datos epidemiológicos | N° de sueros examinados | Frecuencia (porcentaje) de sueros positivos | | |
|-----------------------|-------------------------|---|---------------------|-------------------|
| | | <i>B. burgdorferi</i> | <i>B. turicatae</i> | <i>B. parkeri</i> |
| Localidad | | | | |
| Camiri | 132 | 11 (8.3) | 8 (6.1) | 8 (6.1) |
| Boyuibe | 111 | 16 (14.4) | 31 (27.9) | 14 (12.6) |
| Gutiérrez | 62 | 6 (9.7) | 10 (16.1) | 3 (4.8) |
| Sexo | | | | |
| Hombres | 116 | 16 (13.8) | 23 (19.8) | 12 (10.3) |
| Mujeres | 189 | 17 (9.0) | 26 (13.8) | 13 (6.9) |
| Edad (años) | | | | |
| 1-5 | 66 | 8 (12.1) | 25 (37.9) | 7 (10.6) |
| 6-10 | 91 | 8 (8.8) | 9 (9.9) | 7 (7.7) |
| 11-20 | 28 | 1 (3.6) | 2 (7.1) | - |
| 21-40 | 98 | 15 (15.3) | 10 (10.2) | 11 (11.2) |
| > 40 | 22 | 1 (4.5) | 3 (13.6) | - |
| TOTAL | 305 | 33 (10.8) | 49 (16.1) | 25 (8.2) |

Los anticuerpos contra *B. turicatae* y *B. parkeri* fueron detectados respectivamente en 49 (16.1%) y 25 (8.2%) muestras de suero (cuadro 1). La diferencia en las prevalencias de anticuerpos hacia estos dos antígenos fue estadísticamente significativa ($p < 0.01$). Dado que los anticuerpos contra *B. turicatae* y *B. parkeri* estuvieron casi siempre asociados en las muestras de suero, podrían ser considerados como género-específico, o sea anticuerpos con reacciones cruzadas a las borrelias de la fiebre recurrente por garrapata. La más alta prevalencia de anticuerpos contra *B. turicatae* respecto a *B.*

parkeri sugirió la presencia de anticuerpos especie-específicos para *B. turicatae*. Los anticuerpos contra *B. turicatae* tuvieron una prevalencia más alta en Boyuibe (27.9%) que en Camiri (6.0%) y Gutiérrez (16.1%), y las diferencias fueron estadísticamente significativas o no significativas ($p < 0.001$ y $p > 0.05$) respectivamente. La más alta prevalencia de anticuerpos anti-*B. turicatae* y anti-*B. parkeri* respectivamente en mujeres y en hombres no fue estadísticamente significativa ($p > 0.25$ para ambas cepas). La prevalencia específica por edad indicó una exposición temprana a las borrelias de la fiebre recurrente por garrapata en los niños (grupo de edades de 1-5 años) con frecuencias en disminución en los grupos de edades mayores.

Anticuerpos con reacción cruzada anti-*B. burgdorferi*, anti-*B. turicatae* y anti-*B. parkeri* fueron observados en una alta prevalencia de sueros positivos (cuadro 2, figura 1). Los sueros con reacción cruzada fueron reexaminados después de absorción con extracto de *Treponema phagedenis*, corrientemente usado para eliminar la reacción cruzada a los antígenos comunes de *Enterobacteria*, *Leptospira*, *Treponema* y *Borrelia* spp. (Ballard *et al.* 1987) (cuadro 3). Los anticuerpos contra la *Borrelia* se redujeron dramáticamente en sueros absorbidos, y los anticuerpos especie-específicos restantes contra *B. burgdorferi*, *B. turicatae* y *B. parkeri* estuvieron presentes respectivamente en 1.3, 1.3, y 1.0% de los sueros.

Cuadro 2. Reacción cruzada de los sueros de *B. burgdorferi*, *B. turicatae* y *B. parkeri* utilizando la prueba IFA

| Antígenos | Frecuencia (porcentaje) de sueros con reacción cruzada | | |
|-----------------------|--|---------------------|-------------------|
| | <i>B. burgdorferi</i> | <i>B. turicatae</i> | <i>B. parkeri</i> |
| <i>B. burgdorferi</i> | 33 | 19 (57.6) | 17 (51.5) |
| <i>B. turicatae</i> | 19 (38.8) | 49 | 18 (36.7) |
| <i>B. parkeri</i> | 17 (68.0) | 18 (72.0) | 25 |

DISCUSION

Las borrelias son espiroquetas transmitidas por artrópodos, las cuales pueden ser patógenas para las personas y los animales. La fiebre recurrente por garrapata, causada por espiroquetas de la sangre del género *Borrelia*, tiene una distribución mundial siendo presente en cinco importantes áreas del mundo incluyendo Sud América (Bell 1987; Butler 1991). Dado que *B. venezuelensis*, la única especie aislada en América Central y del Sur (Kelly 1984), llevada por la especie *Ornithodoros rudis* de garrapata blanda, no ha sido cultivada *in vitro*, las cultivables *B. turicatae* y *B. parkeri*, agente de la fiebre recurrente por garrapata en Norte América, fueron usadas como antígenos en el presente estudio. La borreliosis de Lyme, causada por la *Borrelia burgdorferi*, ha sido encontrada en Norte América, Europa, Australia, Asia y Africa (Paleólogo 1991). Todavía no ha sido encontrada en Sud América. Un estudio preliminar, basado en la evidencia serológica de anticuerpos contra la *B. burgdorferi*, sugiere la presencia de la borreliosis de Lyme en Perú, aunque la posibilidad de reacción cruzada no pueda ser excluida (Need & Escamilla 1991).

En el presente estudio, llevado a cabo en un área rural de la provincia Cordillera, en el sudeste de Boliva, los anticuerpos anti-*B. burgdorferi*, anti-*B. turicatae*, y anti-*B. parkeri*, testados por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA), fueron detectados en el 10.8%, 16.1 y 8.2% de las muestras de sueros probados. La prevalencia de anticuerpos anti-*Borrelia* disminuyó dramáticamente en sueros absorbidos: anti-*B. burgdorferi*, anti-*B. turicatae*, y anti-*B. parkeri* fueron confirmados por IFA-ABS respectivamente en 1.3, 1.3 y 1.0% de sueros testados.

Cuadro 3. Reactividad al test IFA e IFA-ABS de sueros humanos hacia *B. burgdorferi*, *B. turicatae* y *B. parkeri*

| Test serológico | Título sérico | Frecuencia de sueros positivos | | |
|-----------------|---------------|--------------------------------|---------------------|-------------------|
| | | <i>B. burgdorferi</i> | <i>B. turicatae</i> | <i>B. parkeri</i> |
| IFA | 1:32 | 20 | 35 | 18 |
| | 1:64 | 8 | 7 | 1 |
| | 1:128 | 3 | 4 | 4 |
| | 1:256 | 2 | 2 | 2 |
| | 1:512 | - | 1 | - |
| | (1:32-1:512) | (33) | (49) | (25) |
| IFA-ABS | 1:32 | 1 | 2 | - |
| | 1:64 | 1 | 3 | 1 |
| | 1:128 | 2 | - | 1 |
| | 1:256 | - | - | 1 |
| | (1:32-1:256) | (4) | (5) | (3) |

Este es el primer informe sobre la presencia de la borreliosis de Lyme y de la fiebre recurrente por garrapata en Bolivia. Para la borreliosis de Lyme estos hallazgos representan un dato más para respaldar su existencia en Sud América. La reactividad de los sueros de los bolivianos hacia *B. parkeri* y *B. turicatae*, llevadas por las especies de garrapatas blandas de Norte América *O. parkeri* y *O. turicatae* y no llevadas por *O. rudis*, no es muy sorprendente. La teoría de la

especificidad espiroqueta-garrapata, la cual afirma que las borrelias llevadas por dada especie de garrapata, constituyen una especie individual, es imperfecta por el hecho de que algunas borrelias aisladas de una especie de garrapata son capaces de infectar a otras especies de garrapata (Kelly 1984). Además, estudios de reasociación DNA-DNA, para evaluar la especie-especificidad de aislados de *Borrelia* del Norte y Sud América, no han sido realizados. En realidad, borrelias aisladas en Norte y Sud América tienen una reacción cruzada con sueros inmunes recíprocos.

Nuestros datos mostraron una alta frecuencia de sueros con reacción cruzada con cepas de *B. burgdorferi*, *B. parkeri*, y *B. turicatae*. La presencia de anticuerpos con reacción cruzada y su desaparición después de la absorción con *T. phagedenis* indicó que los antígenos bacterianos comunes, responsables de las falsas reactividades de sueros a los antígenos de *Borrelia*, estaban circulando ampliamente en la muestra de la población de la provincia Cordillera. La alta prevalencia de infecciones oro-fecales previamente observada en la provincia Cordillera (Bartoloni *et al.* 1989a; Paradisi *et al.* 1989c; Cancrini *et al.* 1989), sugirió que los antígenos comunes podrían ser principalmente llevados en la muestra de la población por cepas de la familia de las *Enterobacteriaceae* (Ballard *et al.* 1987).

En conclusión, los datos serológicos indicaron que la borreliosis de Lyme y la fiebre recurrente por garrapata están presentes con una relativamente baja prevalencia en la población de la provincia Cordillera.

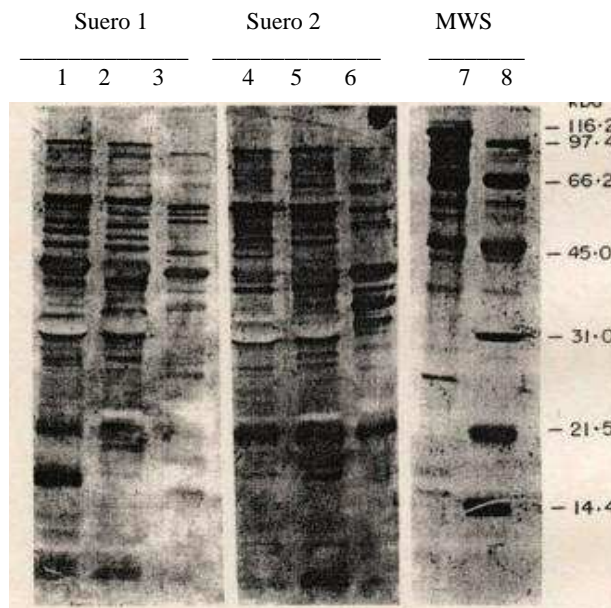


Figura 1. Prueba de Westernblot (WBA) de lisados celulares de *Borrelia burgdorferi* B31 (carril 1,4) N34 (carril 2,5) y *Borrelia turicatae* (carril 3,6) curridos sobre un gel de 10.0% SDS de poliacrilamida y transferido sobre nitrocelulosa por WBAs. Las manchas fueron reaccionadas con 2 sueros (carril 1-3, suero 1; carril 4-6, suero 2) IFA-ABS positivos a *B. burgdorferi* B31. Pesos moleculares estándar altos y bajos (MW) fueron beta-galactosidasa (116.2 kDa), albúmina de suero bovino (66.2 kDa), ovalbumina (45.0 KDa), anhídrido carbónico (31.0 kDa), inhibidor de soja de la tripsina (21.5 kDa) y lisozima de huevo de gallina (14.4 kDa).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Dr. Roberto Vargas Sagarnaga, Director del Dpto. Nacional de Epidemiología del Ministerio del Previsión Social y Salud Pública por el permiso y el aliento que nos dio para llevar a cabo este trabajo. También agradecen a los miembros del equipo de trabajo en el campo, Jorge Changaray, Aurelio Pinto, Nicolasa Callejas y Epifania Flores, por su valiosa ayuda en la obtención de las muestras.

REFERENCIAS

- Ballard S., Faine S. & Adler B. (1987) Purification and characterization of a protein antigen from *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*, common to a wide range of bacteria. *Journal of General Microbiology* 136,1849.
- Bartoloni A., Aquilini D., Roselli M. *et al* (1989a) Prevalence of antibody to hepatitis A virus in the Santa Cruz region of Bolivia. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 92,279.
- Bartoloni A., Aquilini D., Roselli M. *et al.* (1989b) Serological survey of antibodies to cytomegalovirus in the Santa Cruz region of Bolivia. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 92,391.

- Bartoloni A., Paradisi F., Aquilini D. *et al.* (1989c) Absence of HIV infection in low- and high-risk groups in the Santa Cruz region, Bolivia. *AIDS* 3,184.
- Bell D.R. (1987) Tick-borne relapsing fever. In *Manson's Tropical Diseases*. 19th edn. (eds P.E.C. Manson-Bahr & D.R. Bell), Baillière-Tindall, London, p. 649.
- Burgdorfer W., Barbour A.G., Hayes S.F. *et al.* (1982) Lyme disease: a tick-borne spirochetosis? *Science* 216,1317.
- Butler T. (1991) Relapsing fever. In *Hunter's Tropical Medicine*. 7th edn. (ed. G.T. Strickland), W. B. Saunders Company, Philadelphia, p.312.
- Cancrini G., Bartoloni A., Paradisi F. & Nuñez L.E. (1989) Parasitological observations on three Bolivian localities including rural communities, cities and institutions. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 83,591.
- Kelly R.T. (1984) Genus IV. *Borrelia* Swellengrebel 1907. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1 (ed. N. R. Krieg), William & Wilkins, Baltimore, p. 59.
- Need J.T. & Escamilla J. (1991) Lyme disease in South America? *Journal of Infectious Diseases* 163,681.
- Paleologo F.P. (1991) Lyme disease. In *Hunter's Tropical Medicine*. 7th edn. (ed. G.T. Strickland), W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 324.
- Paradisi F., Bartoloni A., Aquilini D. *et al.* (1989) Serological survey of toxoplasmosis in the Santa Cruz region of Bolivia. *Transactions of Royal Tropical Medicine and Hygiene* 83,213.
- Sanabria H. (1977) Monografía del Departamento de Santa Cruz. *Boletín de la Sociedad de Estudios Geográficos e Históricos* 39,60.
- WHO Expert Committee on Health Statistics (1966) Sampling methods in morbidity surveys and public health investigations. Tenth report. Geneva, World Health Organization. *Technical Report Series* No. 336.
- World Health Organization (1973) Adequacy of sample size. Geneva, World Health Organization *Unpublished document*, WHO: HSM/73.19.